

Bidang Unggulan: Ketahanan Pangan, Obat dan Kesehatan
Kode>Nama rumpun ilmu : 402/ Farmakologi Dan Farmasi Klinik

LAPORAN TAHUNAN

PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI



UJI PREKLINIS DAN KLINIS GEL DAN MEMBRAN MADU UNTUK MEMPERCEPAT PENYEMBUHAN LUKA

TAHUN KE 1 DARI RENCANA 2 TAHUN

Tim Pengusul :

Dr. FEBRIYENTI, M.Si, Apt.
NIDN. 0010027407

Dr. (Clin. Pharm.) DEDY ALMASDY, M.Si., Apt
NIDN. 0019027106

NAJMIATUL FITRIA, S.Farm., M.Farm., Apt.
NIDN. 0030118402

UNIVERSITAS ANDALAS PADANG

November, 2015

Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan dan
Kebudayaan, sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Penelitian Nomor:
030/SP2H/PL/DIT.LITABMAS/II/2015 Tanggal 5 Februari 2015

HALAMAN PENGESAHAN

Judul

: UJI PREKLINIS DAN KLINIS GEL DAN MEMBRAN
MADU UNTUK MEMPERCEPAT PENYEMBUHAN
LUKA

Peneliti/Pelaksana

Nama Lengkap : Dr. FEBRIYENTI S.Si.,M.Si.,Apt.
Perguruan Tinggi : Universitas Andalas
NIDN : 0010027407
Jabatan Fungsional : Asisten Ahli
Program Studi : Farmasi
Nomor HP : 082172775869
Alamat surel (e-mail) : febriyenti@ffarmasi.unand.ac.id

Anggota (1)

Nama Lengkap : Dr (Clin. Pharm.) DEDY ALMASDY M.Si., Apt.
NIDN : 0019027106
Perguruan Tinggi : Universitas Andalas

Anggota (2)


Nama Lengkap : NAJMIATUL FITRIA S.Farm., M.Farm., Apt.
NIDN : 0030118402
Perguruan Tinggi : Universitas Andalas
Institusi Mitra (jika ada) :
Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 114.500.000,00
Biaya Keseluruhan : Rp 198.000.000,00

Mengetahui,
Dekan

(Prof. Dr. Helmi Arifin, MS, Apt)
NIP/NIK 195411221985031002

Padang, 3 - 11 - 2015
Ketua,


(Dr. FEBRIYENTI S.Si.,M.Si.,Apt.)
NIP/NIK 197402102005012001

Menyetujui,
Ketua LPPM Unand

(Prof. Dr. Herwandi, M.Hum.)
NIP/NIK 196209131989011001

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Pengesahan	i
Daftar Isi	ii
Ringkasan	iii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	3
BAB 3 TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	5
BAB 4 METODE PENELITIAN	6
BAB 5 HASIL YANG DICAPAI	9
BAB 6 RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA	23
BAB 7 KESIMPULAN	23
DAFTAR PUSTAKA	24
LAMPIRAN	27

RINGKASAN

Pemanfaatan bahan alam (madu) sebagai bahan aktif dalam pengobatan dan menjamin ketersediaan bahan alam dalam bentuk sediaan yang siap digunakan untuk pengobatan merupakan tujuan jangka panjang dari penelitian ini. Sedangkan target khusus yang ingin dicapai adalah mendapatkan formula gel dan film madu yang teruji secara preklinis dan klinis untuk mempercepat penyembuhan luka dan sekaligus dapat berperan sebagai pelindung luka, pengganti pelindung luka tradisional serta menyediakan lingkungan yang optimal bagi proses penyembuhan luka. Hasil akhir penelitian ini selain dapat menghasilkan publikasi internasional dan paten tapi juga akan menghasilkan produk sediaan obat berupa gel dan membran madu yang dapat diproduksi secara komersial bekerjasama dengan pihak industri.

Salah satu usaha untuk meningkatkan nilai dari bahan alam adalah dengan membuatnya menjadi sediaan obat. Disamping harga jualnya menjadi meningkat, manfaatnya pun menjadi lebih besar. Oleh karena itu maka dilakukanlah usaha untuk memformulasi madu menjadi gel dan membran untuk mempercepat penyembuhan luka bakar dan luka sayatan. Nilai madu yang sudah dalam bentuk sediaan obat menjadi jauh lebih tinggi dibandingkan dengan madu yang tidak diolah.

Tahap formulasi gel dan membran madu sudah dilakukan pada penelitian terdahulu. Sudah didapatkan prototipe formula gel dan membran madu yang stabil secara fisika dan kimia. Selanjutnya pada tahap ini akan dilakukan uji preklinis gel dan membran madu terhadap luka bakar dan luka sayatan. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih. Dibuat luka bakar dan luka sayatan pada hewan uji, kemudian diobati dengan gel dan membran madu dan diamati kecepatan penyembuhannya dibandingkan hasilnya dengan obat standar. Uji klinis dilakukan pada manusia. Sampel yang digunakan adalah luka operasi Caesar. Diamati kecepatan penyembuhan luka operasi ini dan dibandingkan dengan obat standar.

Luaran yang ditargetkan dari penelitian ini adalah 1 (satu) artikel ilmiah publikasi pada Jurnal Internasional bereputasi (terindeks Scopus) setiap tahun penelitian dan produk gel dan membran madu yang sudah teruji secara preklinis dan klinis.

BAB 1. PENDAHULUAN

Latar Belakang

Madu adalah suatu cairan kental berasa manis dan lezat, berwarna kuning terang atau kuning keemasan yang dihasilkan oleh hewan jenis serangga yang disebut lebah atau tawon (*Apis mellifera*). Madu alami mengandung 35% glukosa, 40% fruktosa, 5% sukrosa, 20% air, tiamin (B1), riboflavin (B2), piridoksin (B6), vitamin C, vitamin A, vitamin K, dekstrin, pigmen tumbuhan, asam amino, protein, ester, dan komponen aromatik yaitu zat-zat atau unsur yang berfungsi sebagai pengharum. Beberapa kandungan mineral dalam madu adalah belerang (S), kalsium (Ca), tembaga (Cu), mangan (Mn), besi (Fe), fosfor (P), klor (Cl), kalium (K), magnesium (Mg), iodium, seng (Zn), silikon (Si), natrium (Na), molibdenum (Mo) dan aluminium (Al). Madu juga mengandung senyawa Lysozyn yang memiliki daya antibakteri, termasuk senyawa Inhibine, yang dapat bekerja sebagai desinfektan. Hal itulah yang menyebabkan madu alami dapat digunakan sebagai penyembuh luka (Anonim, 2012; Rostita, 2007; Purbaya, 2007).

Madu dapat digunakan secara langsung pada permukaan luka. Mekanisme kerja mikroskopis madu terhadap luka sangat banyak. Madu dapat menarik cairan dari sirkulasi dasar, menyediakan lingkungan yang lembab dan nutrisi topikal yang dapat meningkatkan pertumbuhan (Molan, 1999). Secara histology, madu menstimulasi pertumbuhan jaringan pada hewan percobaan dan sukarelawan (Bergman 1983; Subrahmanyam 1998), sedikit perubahan inflamasi (Oryan 1998; Postmes 1997), dan mempercepat epitelisasi (Oryan 1998). Secara makroskopis, penelitian terdahulu telah melaporkan adanya mekanisme pemecahan dari madu (Blomfield 1973; Efem 1988; Ndayisaba 1993; Subrahmanyam 1991).

Pada zaman dahulu, pengobatan luka dilakukan dengan membiarkan luka menjadi kering membentuk penutup luka yang keras seperti keropeng. Kemudian pengobatan luka sudah mengalami perubahan dimana diketahui bahwa luka akan lebih cepat sembuh bila ditutup dengan penutup lembab. Secara tradisional, digunakan kain kasa yang terbuat dari katun. Kemudian terus berkembang sehingga sekarang digunakan gel dan membran untuk menutup luka dan mempercepat penyembuhan luka (Santos et al., 2006; Gore and Akolekar, 2003; Agren et al., 1997).

Pada penelitian ini kami menggunakan penutup luka berupa gel dan membran yang diperkaya dengan madu. Diharapkan produk yang kami buat dapat mempercepat penyembuhan luka dengan menggabungkan dua faktor penyembuhan luka yaitu nutrisi untuk penyembuhan luka dan penutup luka yang sesuai.

Polimer polimer yang biasanya digunakan untuk gel farmasetik meliputi gom alam tragacanth, pektin, carraganti, agar, alginat, serta bahan-bahan sintesis dan semisintesis seperti metilselulosa, karboksimetilselulosa, dan Carbopol yang merupakan polimer dengan gugus karboksil yang terionisasi di air (InETNA, 2004).

Membran dapat dihasilkan dari pengeringan gel dalam kondisi tertentu. Sebagai penutup luka harus memiliki kriteria seperti permeabel terhadap oksigen, dapat mempertahankan kelembaban luka, mencegah inflamasi, mudah dilepas, dan tidak menimbulkan rasa sakit (Fradette, 2002; Patakelian et al., 2005; Watson and Weiss, 2005; Weiss et al., 1993; Sousa et al., 1999; Turner, 1991). Membran untuk penutup luka harus memiliki daya regangan yang baik sehingga tidak rusak bila digunakan pada daerah tubuh yang akan bergerak seperti luka di lutut (Sezer et al., 2005).

Penyembuhan luka merupakan suatu proses yang kompleks dan dinamis yang melibatkan suatu kegiatan bioseluler dan biokimia yang terjadi saling berinteraksi. Proses penyembuhan luka tidak hanya terbatas pada proses regenerasi yang bersifat lokal saja pada luka, namun dipengaruhi pula oleh faktor sistemik dan faktor ekstrinsik (InETNA, 2004).

Faktor intrinsik adalah faktor dari penderita yang dapat berpengaruh dalam proses penyembuhan meliputi usia, status gizi, status hidrasi, oksigenasi dan perfusi jaringan, status imunologi, dan penyakit penyerta (hipertensi, DM, arteriosclerosis) (InETNA, 2004).

Faktor ekstrinsik adalah faktor yang didapat dari luar penderita yang dapat berpengaruh dalam proses penyembuhan luka, meliputi pengobatan, radiasi, stres psikologis, infeksi, iskemia dan trauma jaringan (InETNA, 2004).

Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kecepatan penyembuhan luka adalah faktor nutrisi, karena penyembuhan luka membutuhkan nutrisi yang cukup agar diuplai ke daerah luka. Peningkatan kebutuhan metabolisme yang disebabkan inflamasi dan aktivitas seluler dalam penyembuhan luka, membutuhkan

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

Gel adalah sistem semipadat dimana fase cairnya dibentuk dalam suatu matriks polimer tiga dimensi (terdiri dari gom alam atau gom sintetis) yang tingkat ikatan silang fisiknya yang tinggi. Polimer-polimer yang biasanya digunakan untuk membuat gel-gel farmasetik meliputi gom alam tragacanth, pektin, carragent, agar, asam alginat, serta bahan-bahan sintetis dan semisintetis seperti metilselulosa, hidroksietilselulosa, karboksimetilselulosa, dan Carbopol yang merupakan polimer vinil sintetis dengan gugus karboksil yang terionisasi. (Lachman et al., 1994).

Membran dapat dihasilkan dari pengeringan gel dalam kondisi tertentu. Membran sebagai penutup luka harus memiliki kriteria seperti permeabel terhadap udara, dapat mempertahankan kelembaban luka, mencegah inflamasi, mudah digunakan dan murah (Cockbill, 2007; Balakrishnan et al., 2005; Watson and Hodgkin, 2005; Weiss et al., 1993; Soula et al., 1999; Turner, 1991). Membran untuk menutupi luka harus memiliki daya regangan yang baik sehingga tidak rusak bila digunakan pada daerah tubuh yang aktif bergerak seperti siku dan lutut (Sezer et al., 2007).

Penyembuhan luka merupakan suatu proses yang kompleks dan dinamis karena merupakan suatu kegiatan bioseluler dan biokimia yang terjadi saling berkesinambungan. Proses penyembuhan luka tidak hanya terbatas pada proses regenerasi yang bersifat lokal saja pada luka, namun dipengaruhi pula oleh faktor intrinsik dan faktor ekstrinsik (InETNA, 2004).

1. Faktor Instrinsik adalah faktor dari penderita yang dapat berpengaruh dalam proses penyembuhan meliputi: usia, status nutrisi dan hidrasi, oksigenasi dan perfusi jaringan, status imunologi, dan penyakit penyerta (hipertensi, DM, Arthereosclerosis) (InETNA, 2004).
2. Faktor Ekstrinsik adalah faktor yang didapat dari luar penderita yang dapat berpengaruh dalam proses penyembuhan luka, meliputi: pengobatan, radiasi, stres psikologis, infeksi, iskemia dan trauma jaringan (InETNA, 2004).

Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kecepatan penyembuhan luka adalah faktor nutrisi, karena penyembuhan luka membutuhkan nutrisi yang cukup untuk disuplai ke daerah luka. Peningkatan kebutuhan metabolisme yang disebabkan oleh inflamasi dan aktivitas seluler dalam penyembuhan luka, membutuhkan

peningkatan protein atau asam amino, vitamin, dan mineral (MacKay & Miller, 2003; Sheperd, 2003).

1. Vitamin dan Mineral

Beberapa vitamin yang diperlukan dalam penyembuhan luka adalah vitamin A, C dan E. Vitamin A dibutuhkan dalam perkembangan jaringan epitel dan tulang, diferensiasi seluler dan fungsi sistem imun. Vitamin C adalah kofaktor penting dalam sintesis kolagen, proteoglikan, dan komponen organik lainnya. Vitamin E sebagai antioksidan lipofilik dapat mencegah peroksidasi dari lipid sehingga menghasilkan membran sel yang stabil. Besi merupakan mineral penting untuk sintesis DNA, pembelahan sel dan sintesis protein yang merupakan proses penting dalam penyembuhan (MacKay & Miller, 2003; Sheperd, 2003).

2. Protein atau Asam Amino

Pasokan protein yang cukup sangat penting dalam penyembuhan luka. Kekurangan protein dapat menunda penyembuhan luka karena memperpanjang fase inflamasi dengan menghambat fibroplasia, sintesis kolagen dan proteoglikan, dan neoangiogenesis, serta menghambat remodeling luka (MacKay & Miller, 2003; Sheperd, 2003).

Peneliti telah menemukan bahwa arginin dan glutamin merupakan asam amino penting dalam penyembuhan luka. Arginin yang cukup dalam jaringan penting untuk penyembuhan luka yang efektif dan fungsi imun. Sedangkan glutamin digunakan oleh sel inflamasi untuk proliferasi dan sebagai sumber energi (MacKay & Miller, 2003; Sheperd, 2003).

3. Suplemen Makanan Lain

Suplemen seperti bromelain dan glukosamin telah terbukti berperan penting dalam penyembuhan luka. Bromelain yang diberikan secara oral dapat mengurangi edema, memar, rasa sakit dan waktu penyembuhan. Glukosamin berperan untuk meningkatkan produksi asam hyaluronat pada luka yang menstimulasi migrasi dan mitosis dari fibroblast dan sel epitel (MacKay & Miller, 2003; Sheperd, 2003).

BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan gel dan membran madu yang teruji secara preklinis dan klinis untuk mengobati luka bakar dan luka sayatan, mempercepat penyembuhan dan menggantikan penutup luka konvensional.

Produk kesehatan yang berbahan dasar alam sangat banyak digunakan saat ini dan diharapkan menjadi sesuatu yang menjanjikan dalam industri farmasetik-kosmetik di kemudian hari. Madu yang bersumber dari alam diharapkan mampu memberikan efek maksimal untuk memperbaiki jaringan akibat luka bakar tanpa meninggalkan bekas. Hal ini dimungkinkan dengan adanya kemampuan untuk menghambat reaksi isomerisasi asam urosanik dan mencegah akumulasi protein yang menyebabkan penundaan penyembuhan luka bakar.

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1. Pembuatan Gel Madu

Gel madu dibuat dengan metoda pengadukan panas (Carter, 1975; Cao, 2009; Kumar, 2010; Swarbrick, 1992). Poli vinyl alkohol (PVA) (10%) dikembangkan dalam air panas dan digerus homogen. Nipagin (0,1%) dilarutkan dalam propilen glikol (10%) kemudian ditambahkan madu (10 %) dan aquadest. Kedua masa di atas dicampur sampai homogen dan ditambah aquadest sampai 100%. Evaluasi untuk gel yang terbentuk adalah pemerian, homogenitas, pH dan daya sebar (Febriyenti et al., 2014).

4.2. Pembuatan Membran Madu

Membran madu dibuat dengan mengembangkan Poli vinyl alkohol (PVA) (10%) dalam air panas dan digerus homogen. Nipagin (0,1%) dilarutkan dalam gliserol (5%) kemudian ditambahkan madu (10 %) dan aquadest. Kedua masa di atas dicampur sampai homogen dan ditambah aquadest sampai 100%. Kemudian masa ini dikeringkan dalam cawan petri sampai diperoleh membran tipis transparan. Evaluasi membran madu adalah penampilan membran dan tebal membran (Febriyenti et al., 2014).

4.3. Persiapan Hewan Uji

Untuk uji preklinis digunakan tikus putih spraque dawley. Hewan diaklimasi dalam kandangnya selama seminggu sebelum digunakan. Selama percobaan hewan dibiarkan bebas mencapai makanan dan minumannya. Kandang hewan dibersihkan setiap dua hari. Hewan diletakkan dalam ruangan dengan ventilasi baik dan pencahayaan 12 jam terang dan 12 jam gelap (Lansdown, 1993; Olfert, 1993).

4.4. Uji preklinis gel dan membran madu

Metoda yang digunakan dalam uji preklinis ini telah disetujui oleh dewan animal ethic Universitas Andalas (Lampiran 1). Uji preklinis dilakukan dengan metode eksperimental dengan cara membandingkan efek penyembuhan luka membran dan gel madu pada hewan percobaan. Membran dan gel madu ini diuji daya penyembuhannya dengan menggunakan metoda yang digunakan oleh A.S.T.M (2005), Ecobichon (1997) and Bagley (1996) dengan sedikit modifikasi.

Luka Bakar

Pada pengujian ini hewan percobaan dibagi atas beberapa kelompok sebagai kontrol dan uji. Tiap kelompok terdiri dari 6 hewan uji. Pengelompokan hewan uji tersebut dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 1. Pengelompokan hewan uji

Hari	Gel Madu	Membran Madu	Kontrol (-)	Kontrol (+)
1				
2				
3				
dst				

Tikus dianestesi menggunakan eter secara inhalasi. Bulu bagian punggung tikus dicukur seluas cukup untuk membuat luka bakar. Kulit dibersihkan dengan etanol 70% dan normal salin, kemudian dibiarkan sampai kering. Luka bakar dibuat dengan cara meletakkan chop besi yang dipanaskan dalam air mendidih pada kulit tikus tadi selama 10 detik. Sehingga dihasilkan luka bakar tingkat dua. Kemudian luka segera diolesi gel atau ditutupi dengan membran madu sesuai dengan kelompok percobaannya. Hewan uji diletakkan dalam kandangnya masing-masing. Obat diberikan sekali sehari. Diamati kondisi luka, apakah terjadi infeksi atau tidak. Kemudian dihitung persentase penyembuhan luka dengan menghitung perubahan luas luka setiap harinya selama 25 hari atau sampai sembuh (Laila et al., 2011).

Luka sayatan

Tikus disiapkan seperti cara di atas. Kemudian dibuat luka sayatan sepanjang 6 cm. Luka ini kemudian dijahit menggunakan benang catgut. Setelah pembuatan luka selesai, tikus dikelompokkan menjadi 4 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 12 tikus. Setiap kelompok diobati sesuai dengan kelompoknya masing-masing. Enam tikus dari tiap kelompok dibunuh pada hari ke 3, 6, 9 dan 12. Kemudian daya regang luka yang sudah menyatu kembali diukur untuk menentukan derajat kesembuhan luka. Makin besar daya yang diperlukan untuk merobek kembali luka sayatan yang sudah menyatu berarti makin baik proses penyembuhannya. Pengujian dilakukan menggunakan alat texture analyzer (alat uji tarik). Kulit tikus yang ada luka

sayatannya diletakkan pada alat. Kemudian diberi gaya untuk menarik dan melepas luka yang sudah menyatu tersebut. Dibandingkan nilai daya yang diperlukan untuk merusak kembali luka antar kelompok hewan uji (Laila et al., 2011).

Tabel 3. Hasil Evaluasi Gel Madu

No.	Evaluasi	Hasil
1	Organoleptik	Bentuk
		Setengah Padat
	Warna	Putih Kekuningan
2	Homogenitas	Homogen
3	pH	6,1
4	Daya Sebar (cm ²)	Beban 3 g
		0,1257
		Beban 5 g
		0,1257
		Beban 7 g
		0,1904

Tabel 4. Hasil Evaluasi Membran Madu

No.	Evaluasi	Hasil
1	Permeabilitas	Membran mudah dikelupas dari luka dan terdapat sedikit gelembung udara
2	Ketebalan	0,167-0,014 mm

Hasil evaluasi fisik gel dan membran madu memenuhi persyaratan untuk digunakan pada evaluasi berikutnya.

Foto kondisi luka bakar dari 4 kelompok uji yang mendapat perlakuan berbeda dapat dilihat pada Tabel 4 dibawah ini.

BAB 5. HASIL YANG DICAPAI

Hasil evaluasi gel dan membran madu dapat dilihat pada Tabel 2 dan 3 dibawah ini.

Tabel 2. Hasil Evaluasi Gel Madu

No.	Evaluasi		Hasil
1	Organoleptis	Bentuk	Setengah Padat
		Bau	Seperti Madu
		Warna	Putih Kekuningan
2	Homogenitas		Homogen
3	pH		6,1
4	Daya Sebar (cm ²)	Beban 1 g	0,0707
		Beban 3 g	0,1257
		Beban 5 g	0,1257
		Beban 7 g	0,1964

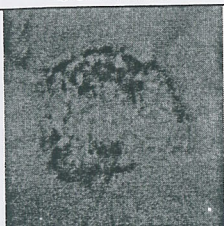


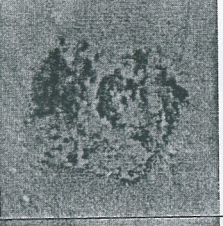
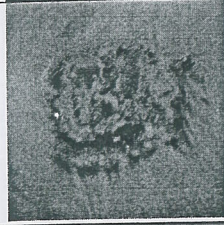
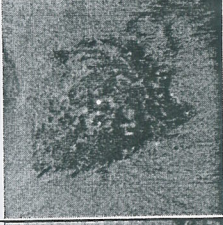
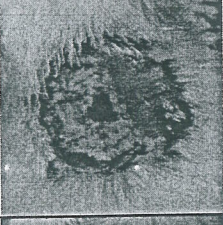
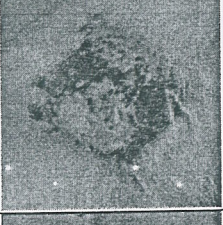
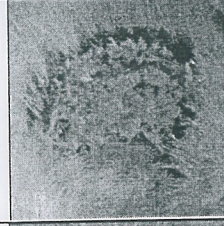

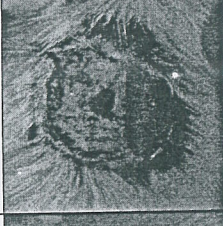
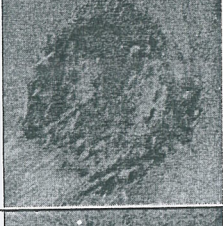
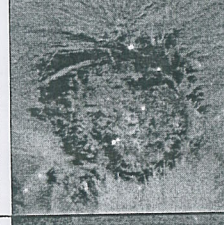



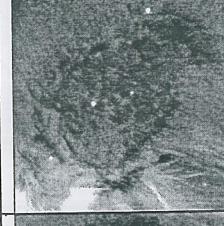


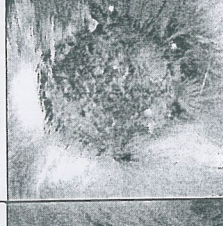


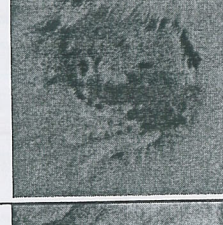
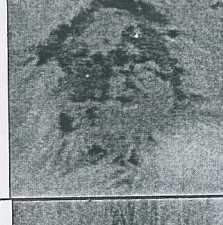
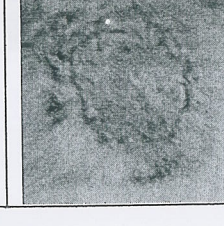



Tabel 3. Hasil Evaluasi Membran Madu

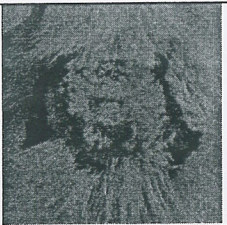
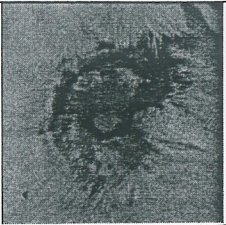
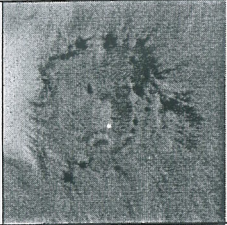
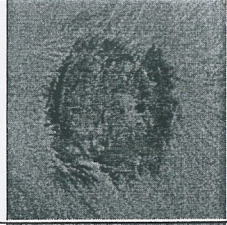
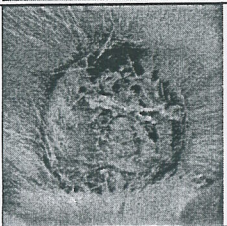
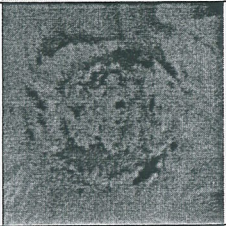
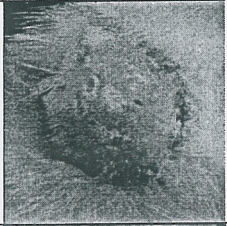
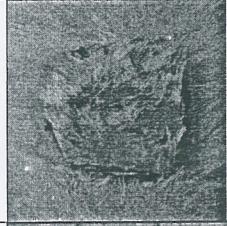
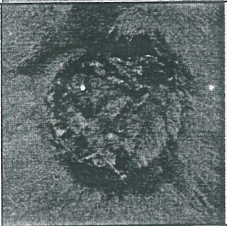


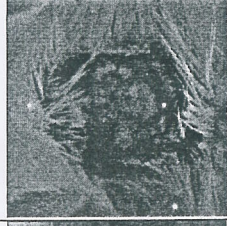









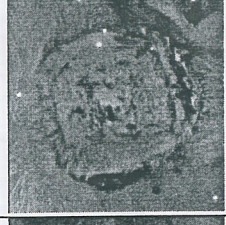
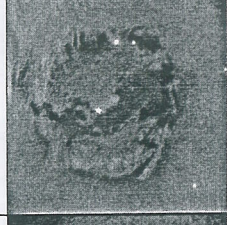

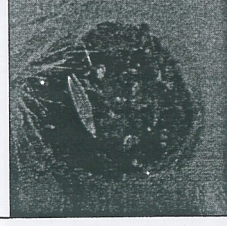



No.	Evaluasi	Hasil
1	Penampilan	Membran mudah dikeluarkan dari cetakan, terdapat sedikit gelembung udara
2	Ketebalan	0,167±0,014 mm

Hasil evaluasi fisik gel dan membran madu memenuhi persyaratan untuk digunakan pada evaluasi berikutnya.

Foto kondisi luka bakar dari 4 kelompok uji yang mendapat perlakuan berbeda dapat dilihat pada Tabel 4 dibawah ini.

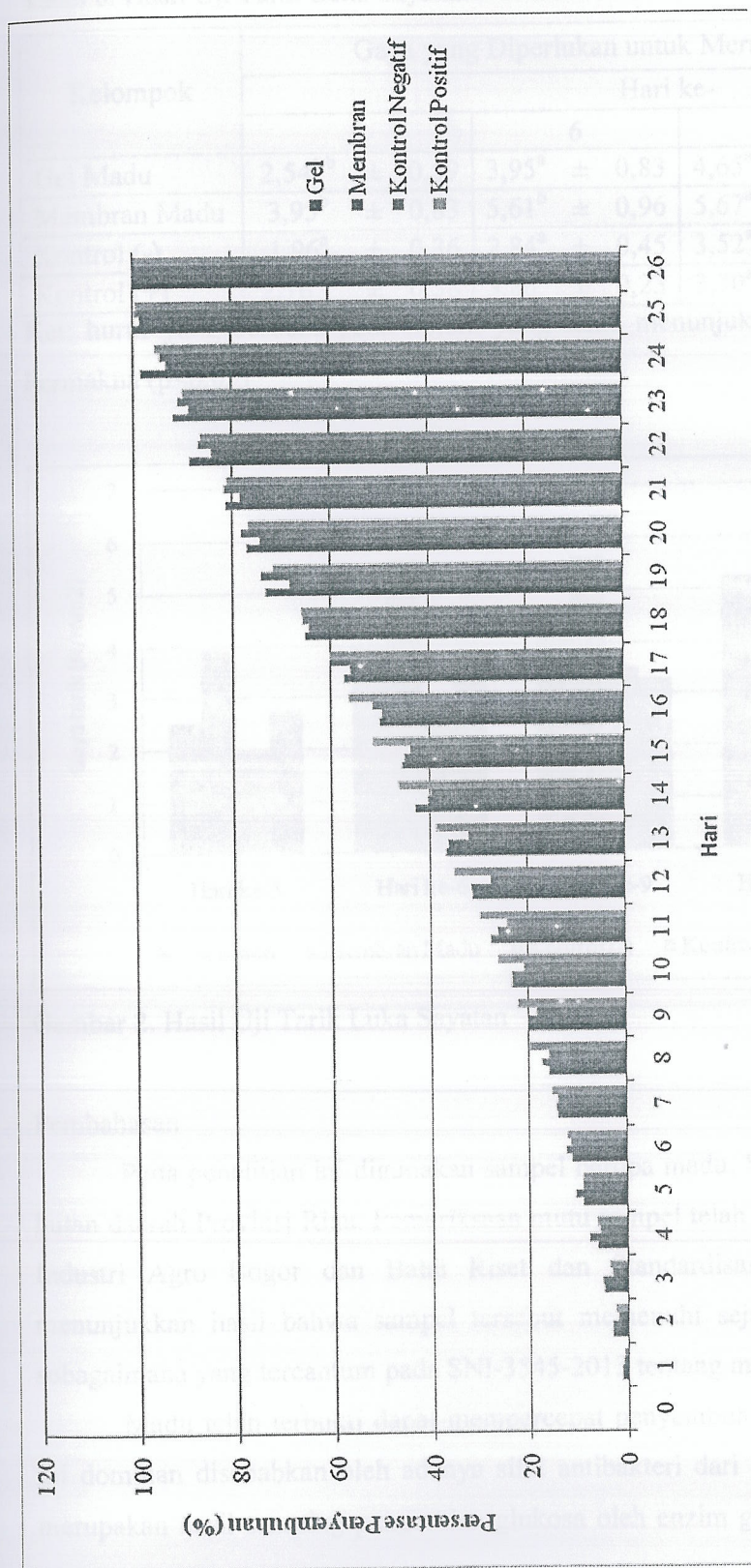
Tabel 4. Foto Kondisi Luka Bakar

Hari ke-	Kondisi Luka			
	Gel Madu	Membran Madu	Kontrol (-)	Kontrol (+)
0				
1				
2				
3				
4				
5				
6				

7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				

Tabel 5. Hasil perhitungan persentase kesembuhan luka bakar

Hari ke-	Persentase Kesembuhan Luka (%)			
	Gel Madu	Membran Madu	Kontrol (-)	Kontrol (+)
1	1,14±0,72	1,31± 1,09	0,88± 0,97	0,70± 0,31
2	3,20±1,84	3,06± 2,16	1,96± 1,12	2,29± 0,50
3	4,83±2,51	5,12± 3,45	3,23± 1,47	3,55± 0,72
4	6,13±2,87	7,79± 3,60	5,51± 2,12	5,92± 2,02
5	8,83±2,67	10,47± 4,38	8,83± 2,89	9,02± 3,66
6	11,03±2,96	12,39± 4,72	11,25± 3,37	11,98± 4,13
7	14,07±3,55	14,25± 4,16	13,95± 4,16	15,15± 4,10
8	15,57±4,31	17,06± 4,99	15,55± 5,53	19,63± 4,22
9	19,69±6,01	19,91± 5,34	18,10± 4,87	22,00± 5,41
10	23,25±7,11	23,02± 7,56	20,62± 4,74	26,06± 7,24
11	27,43±7,35	25,97± 7,63	24,11± 5,97	29,61± 7,98
12	31,24±6,00	31,51±10,50	27,38± 6,40	34,96±10,55
13	36,59±5,65	36,03±11,13	31,95±10,23	38,46± 9,87
14	42,83±7,65	40,35±12,66	39,54±16,00	46,20±12,25
15	45,54±8,40	44,99±12,71	43,88±16,37	51,52±13,18
16	50,14±9,10	49,62±13,80	51,49±16,51	56,28±12,38
17	57,42±8,53	56,11±14,11	59,96±11,51	60,22±13,40
18	65,40±5,49	64,62±14,82	65,88±11,78	66,13±11,52
19	73,20±5,95	68,34±14,05	74,25±11,16	71,76±12,14
20	77,17±6,26	74,47±12,30	78,40± 8,97	76,75±11,41
21	81,54±6,44	78,54±11,66	81,78± 9,47	81,27±10,01
22	88,70±5,85	84,38±13,85	87,01± 9,03	86,39± 8,70
23	92,05±4,98	88,80±11,52	91,12± 8,18	90,04± 6,65
24	98,54±2,64	93,54± 8,38	94,69± 6,62	95,76± 4,82
25	100,00±0,00	98,76± 3,03	99,77± 0,56	99,61± 0,60



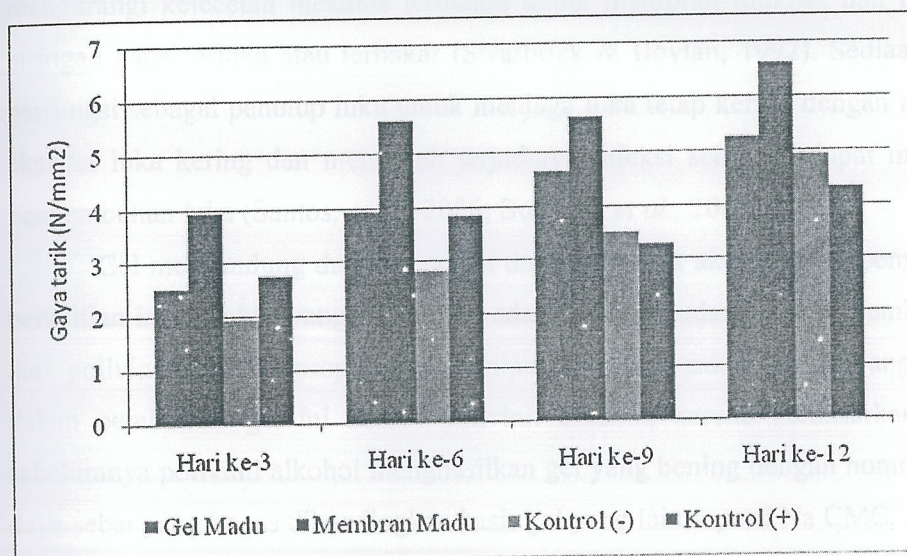
Gambar 1. Grafik persentase penyembuhan luka pada tikus setiap kelompok setelah pemberian sediaan uji

Hasil uji tarik luka sayatan dapat dilihat pada Tabel 6 dibawah ini.

Tabel 6. Hasil Uji Tarik Luka Sayatan

Kelompok	Gaya yang Diperlukan untuk Merusak Luka (N/mm ²)			
	Hari ke-			
	3	6	9	12
Gel Madu	2,54 ^{a,b} ± 0,59	3,95 ^a ± 0,83	4,65 ^a ± 1,30	5,26 ^a ± 0,34
Membran Madu	3,95 ^b ± 0,83	5,61 ^b ± 0,96	5,67 ^a ± 1,56	6,63 ^a ± 3,89
Kontrol (-)	1,96 ^a ± 0,36	2,84 ^a ± 0,45	3,52 ^a ± 0,97	4,93 ^a ± 0,95
Kontrol (+)	2,76 ^{a,b} ± 0,58	3,86 ^a ± 0,23	3,30 ^a ± 1,35	4,33 ^a ± 1,56

Ket: huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda bermakna ($p < 0,05$)



Gambar 2. Hasil Uji Tarik Luka Sayatan

Pembahasan

Pada penelitian ini digunakan sampel berupa madu. Sampel ini diperoleh dari hutan daerah Provinsi Riau. Pemeriksaan mutu sampel telah dilakukan di Balai Besar Industri Agro Bogor dan Balai Riset dan Standardisasi Industri Padang dan menunjukkan hasil bahwa sampel tersebut memenuhi sejumlah persyaratan mutu sebagaimana yang tercantum pada SNI-3545-2013 tentang madu.

Madu telah terbukti dapat mempercepat penyembuhan luka. Efek percepatan ini dominan disebabkan oleh adanya sifat antibakteri dari hidrogen peroksida yang merupakan hasil samping penguraian glukosa oleh enzim glukosa oksidase. pH dari

madu juga menyumbang daya antibakteri madu. Selain itu beberapa nutrisi yang terkandung dalam madu seperti vitamin A, C dan E, serta besi dapat membantu mempercepat proses penyembuhan luka (National Honey Board, 1997; Molan, 2001; MacKay & Miller, 2003; Sheperd, 2003).

Sampel madu diformulasi dalam bentuk sediaan topikal yaitu gel dan membran. Sediaan topikal dipilih karena memberikan efek yang lebih cepat dari pada sediaan lainnya terutama diberikan pada kulit, mudah dioleskan pada kulit tanpa penekanan yang berarti, menimbulkan rasa dingin ketika dioleskan pada kulit, dapat memberikan perlindungan pada bagian yang terluka, mudah dicuci ketika pengobatan selesai, lebih stabil dalam penyimpanan dan memiliki bentuk yang menarik (Carter, 1975; Lieberman, 1989). Sediaan gel mempunyai kadar air yang tinggi sehingga dapat mengurangi kelecetan mekanis terutama untuk membran mukosa dan pada bagian jaringan yang terluka atau terbakar (Swarbrick & Boylan, 1992). Sediaan membran berfungsi sebagai penutup luka untuk menjaga luka tetap kering dengan membiarkan eksudat luka kering dan mencegah terjadinya infeksi sehingga dapat mempercepat penyembuhan luka (Santos, *et al.*, 2006; Boateng, *et al.*, 2008).

Gel mengandung dua komponen dasar yaitu zat aktif dan zat pembawa. Pada penelitian ini zat aktif yang digunakan adalah madu, sedangkan zat pembawa terdiri dari polivinil alkohol, propilenglikol, nipagin dan aquadest. Basis yang digunakan dalam pembuatan gel ini adalah polivinil alkohol, karena berdasarkan penelitian sebelumnya polivinil alkohol menghasilkan gel yang bening dengan homogenitas dan daya sebar yang bagus dibandingkan basis gel yang lain seperti Na CMC, Aqupec 505 HV, HPMC dan gelatin (Febriyenti, *et al.*, 2014). Konsentrasi yang dipakai adalah 10% sesuai dengan formula pada penelitian sebelumnya (Febriyenti, *et al.*, 2014).

Selanjutnya penambahan propilenglikol bertujuan untuk menjaga kelembaban sediaan, memperlincin, emolien dan untuk mencegah terjadinya kerak sisa gel setelah komponen lain menguap. Konsentrasi yang dipakai adalah 10% sesuai dengan formula pada penelitian sebelumnya dan dengan persyaratan konsentrasi pemakaian tidak lebih dari 15% (Febriyenti, *et al.*, 2014; Rowe, *et al.*, 2006). Sebagai pelarut digunakan aqua destilata.

Membran madu diformulasi sesuai dengan formula pada penelitian sebelumnya (Febriyenti, *et al.*, 2014). Formula yang digunakan yaitu madu, polivinil alkohol, gliserin, nipagin dan aquadest. Formula membran hampir sama dengan formula gel, bedanya adalah adanya plastisizer menggantikan emolien. Plastisizer

yang digunakan adalah gliserin. Alasan digunakan gliserin adalah pada penelitian sebelumnya menunjukkan membran yang menggunakan gliserin sebagai plastisizer lebih bagus daripada propilenglikol dan polietilenglikol. Konsentrasi gliserin yang digunakan adalah 10% dari jumlah polimer atau 1% dari massa gel karena dapat menghasilkan membran dengan elastisitas yang bagus (Febriyenti, *et al.*, 2014). Gliserin juga dapat berperan sebagai emolien dan untuk menjaga kelembaban sediaan (Rowe, *et al.*, 2006).

Sebelum gel dan membran madu dilakukan uji efektivitasnya terhadap hewan percobaan ada beberapa evaluasi yang harus dilakukan untuk mendapatkan gel dan membran yang memenuhi persyaratan (Carter, 1975; Febriyenti, *et al.*, 2014). Gel yang telah diproduksi dilakukan evaluasi seperti pemeriksaan organoleptis, pH, homogenitas dan uji daya sebar. Hasil evaluasi pemerian selama ± 4 minggu dilakukan secara visual, digunakan untuk memudahkan dalam mengenali gel secara sederhana. Gel memiliki bentuk setengah padat, bau seperti madu, dan warna putih kekuningan. Dari hasil pengamatan selama 4 minggu evaluasi pemerian pada gel tidak mengalami perubahan bentuk. Hal ini menunjukkan bahwa stabilitas yang dimiliki gel bagus selama penyimpanan. Pemeriksaan homogenitas sangat penting dalam sediaan topikal karena sifat ini mencerminkan secara merata pembagian zat aktif ke dalam suatu pembawa sehingga dapat diharapkan dosis terpenuhi sesuai dengan tujuan penggunaannya (Carter, 1975). Hasil pemeriksaan homogenitas gel madu menunjukkan bahwa gel masing-masing formula tetap homogen selama ± 4 minggu penyimpanan ketika dioleskan pada sekeping kaca. Pemeriksaan pH dilakukan untuk melihat stabilitas dan efektifitas serta penetrasi zat berkhasiat ke dalam kulit (Voigt, 1994). Hasil pemeriksaan pH gel madu menunjukkan nilai pH 6,1, memenuhi syarat pH kulit normal yaitu 4,2-6,5 (Voigt, 1994).

Pemeriksaan uji daya menyebar berhubungan dengan konsistensi dan viskositas dari gel, daya penyebaran ini sangat penting dalam pengolesan sediaan pada kulit dimana sediaan dengan daya menyebar yang baik akan memberikan penyebaran dosis yang merata pada kulit (Voigt, 1994). Hasil pemeriksaan uji daya menyebar gel madu menunjukkan hasil yang tidak berbeda jauh meskipun beban yang digunakan berbeda. Dimana pada beban 3 g dan 5 g memberikan daya sebar yang sama. Daya sebar berpengaruh pada efek terapi obat dalam sediaan topikal. Semakin tinggi daya sebar dari suatu sediaan maka penyebaran zat aktif obat tersebut ke permukaan kulit yang diobati akan tersebar merata sehingga mempercepat proses

penyembuhan pada kulit yang luka (Voigt, 1994). Data yang didapatkan dari uji daya menyebar ini bukan merupakan data yang absolut karena tidak ada literatur yang menyatakan angka pasti untuk ini (Lachman, *et al.*, 1994).

Kemudian dilakukan evaluasi terhadap membran madu yang diproduksi meliputi penampilan dan ketebalan membran. Hasil pemeriksaan penampilan membran menunjukkan membran mudah dikeluarkan dari cetakan dan terdapat sedikit gelembung udara pada membran. Adanya gelembung disebabkan oleh penuangan massa ke cetakan yang kurang hati-hati. Hasil pemeriksaan ketebalan menunjukkan membran memiliki rata-rata ketebalan $0,167 \pm 0,014$ mm.

Setelah evaluasi gel dan membran selesai dilakukan dan memenuhi persyaratan gel yang ideal, kemudian dilakukan uji efektivitas gel dan membran terhadap hewan percobaan. Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih betina, karena tikus mempunyai struktur kulit yang lebih kasar dan tebal dari pada mencit, serta luka yang diinginkan cukup besar karena merupakan luka terbuka, sehingga akan memudahkan dalam pengamatan dan digunakan tikus betina hanyalah untuk penyeragaman pada semua tikus. Sebelum diberi perlakuan tikus yang digunakan diaklimatisasi terlebih dahulu selama 10 hari. Hal ini bertujuan untuk penyesuaian terhadap kondisi lingkungan penelitian dan menentukan kelayakan tikus yang digunakan. Dimana tikus yang digunakan tidak mengalami penurunan berat badan lebih dari 10%. Selama aklimatisasi, tikus diberi makan dan minum secukupnya (Lansdown, 1993; Olfert, *et al.*, 1993).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan gel dan membran madu mempercepat penyembuhan luka bakar pada kulit tikus putih betina, serta membandingkannya dengan sediaan yang telah beredar (Bioplacenton®). Bioplacenton® dipilih karena bentuk sediaan sama dengan sediaan uji yaitu gel. Selain itu, madu dan Bioplacenton® sama-sama memiliki aktivitas antibiotik yang mendukung penyembuhan luka (National Honey Board, 1997; Molan, 2001). Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah merapatnya kembali jaringan kulit yang tadinya terpisah dan melebar serta ukuran luka dimana luka diukur sampai semua hewan sembuh kemudian dilihat luas lukanya dan persentase penyembuhan luka pada tiap hewan percobaan. Selain itu juga diamati bagaimana permukaan luka, ada atau tidaknya infeksi dan penampilan luka (Laila, *et al.*, 2011).

Pada pengujian sediaan uji, yaitu gel dan membran madu, terlebih dahulu hewan uji dilukai. Sebelum dilukai hewan uji dikelompokkan sesuai dengan

perlakuan hewan uji yaitu 6 ekor pada masing-masing kelompok. Kelompok satu yaitu tikus yang mengalami luka bakar diberi gel madu. Kelompok dua yaitu tikus yang mengalami luka bakar diberi membran madu. Kelompok tiga yaitu tikus yang mengalami luka bakar namun tidak diberikan pengobatan bertindak sebagai kontrol negatif. Kelompok empat yaitu kelompok pembanding atau kontrol positif dimana tikus yang mengalami luka terbuka diberi sediaan pembanding yang beredar di pasaran yaitu Bioplacenton®.

Setelah itu tikus digunting dan dicukur bulunya dengan alat cukur pada bagian dorsal. Alasan pemilihan bagian dorsal karena dorsal merupakan daerah yang paling jauh untuk dijangkau hewan uji sehingga tikus tidak bisa menjilati lukanya atau memegangnya, baik saat dilukai dan diberikan sediaan uji. Setelah itu bagian dorsal yang telah dicukur diolesi alkohol 70% yang digunakan sebagai antiseptik dan vasodilator pembuluh darah sebelum punggung dilukai. Kemudian daerah punggung dilukai dengan chop logam yang dipanaskan hingga suhu $95 \pm 2^{\circ}\text{C}$ dalam air dan disentuhkan pada kulit tikus selama 10 detik (Laila, *et al.*, 2011).

Pengukuran rata-rata luas luka untuk semua kelompok pada hari ke-0 sampai hari ke-26 mengalami perubahan ukuran luka. Dimana pada hari ke-25 semua hewan uji pada kelompok gel madu sembuh dengan persentase penyembuhan $100,00\% \pm 0,00$, sedangkan kelompok lain belum mencapai persentase penyembuhan $100,00\% \pm 0,00$ (Tabel 5). Dilihat dari hari ke-0 sampai hari ke-5 terjadi fase inflamasi pada hewan percobaan ditandai dengan terjadinya inflamasi pada punggung tikus sebagai bentuk respon dan reaksi dari tubuh, akan tetapi pada kelompok uji ini fase inflamasi tidak mempengaruhi luas luka pada hewan uji, luas luka terus mengecil dan kemudian terbentuk keropeng, pada hari ke-7 terjadi fase proliferasi dimana telah terbentuk jaringan ikat atau fibroblas yang ditandai dengan telah merapatnya kulit seperti keadaan normal, fase maturasi ditandai dengan hilangnya bekas luka pada kulit, ini terjadi pada hari ke-21 dan telah mulai tumbuhnya rambut pada punggung tikus (Mansjoer, 2000) (Tabel 4).

Proses penyembuhan luka terdiri dari 4 fase yaitu fase hemostasis, inflamasi, proliferasi dan maturasi. Segera setelah terjadi luka muncul fase inflamasi yang berlanjut sampai 4 atau 5 hari. Inflamasi berfungsi untuk mengontrol perdarahan, mencegah invasi bakteri, menghilangkan debris dari jaringan yang luka dan mempersiapkan proses penyembuhan lanjutan. Pada fase ini terlihat kelompok membran mengalami persentase penyembuhan yang lebih tinggi dari kelompok lain,

yakni $10,47\% \pm 4,38$. Ini disebabkan karena membran dapat mencegah invasi bakteri ke luka dengan menutupi permukaan luka sebagai lapisan pelindung dari kontaminasi. Madu yang terkandung dalam membran berperan pada fase ini dalam sterilisasi luka karena produksi dari hidrogen peroksida yang efektif membunuh bakteri. Selain itu madu menstimulasi sistem imun dengan menstimulasi limfosit B dan limfosit T, mengaktivasi neutrofil, menyuplai glukosa untuk respirasi dan produksi makrofag dan pH dari madu membantu penghancuran bakteri oleh makrofag (MacKay & Miller, 2003; Mansjoer, 2000; Cockbill, 2002; National Honey Board, 1997).

Kemudian terjadi fase proliferasi dari hari ke-6 sampai 3 minggu yang ditandai dengan pergerakan sel epitel dan fibroblas ke daerah luka untuk mengganti jaringan yang hilang serta sintesis kolagen. Pada fase ini, kelompok kontrol negatif memiliki persentase penyembuhan tertinggi dibandingkan kelompok lain terlihat pada hari ke-21, yakni $81,78\% \pm 9,47$. Hal ini memperlihatkan bahwa pemberian sediaan uji dan pembanding tidak terlalu berpengaruh terhadap hewan uji pada fase ini (Mansjoer, 2000; Cockbill, 2002).

Fase terakhir yaitu fase maturasi yang berlangsung dari hari ke-21 sampai luka sembuh. Fase ini melibatkan pembentukan jaringan penghubung dan penguatan epitel. Pada fase ini, kelompok gel memiliki persentase penyembuhan yang lebih besar dibandingkan kelompok lain, yakni telah mencapai $100\% \pm 0,00$ pada hari ke-25. Hal ini disebabkan oleh kandungan madu pada gel yang menstimulasi penyembuhan pada fase ini dengan menstimulasi promosi jaringan granulasi, proliferasi sel dan sintesis kolagen yang disebabkan oleh kandungan nutrisi pada madu seperti protein, glukosa, vitamin dan mineral serta hidrogen peroksida yang bersifat sebagai antioksidan (Mansjoer, 2000; Cockbill, 2002; National Honey Board, 1997).

Besarnya efek penyembuhan luka yang ditimbulkan dapat dilihat dari suatu grafik hubungan antara persentase penyembuhan luka terhadap waktu, serta melihat kecepatan penyembuhan antara berbagai kelompok dapat dilihat dari grafik hubungan rata-rata luas penyembuhan luka terhadap waktu (Gambar 1). Terjadinya perbedaan lama penyembuhan dan ukuran luas luka yang terdapat pada masing-masing sediaan uji dikarenakan adanya perbedaan bentuk sediaan. Hal tersebut sangat mempengaruhi absorpsi bahan aktif ke dalam kulit. Bentuk sediaan gel dengan basis yang hidrofil akan membantu membawa obat menembus kulit sedangkan bentuk sediaan membran berperan sebagai *dressing* atau penutup luka.

Untuk analisa data diambil sampel persentase penyembuhan tikus semua kelompok dari hari ke-1 hingga hari ke-13. Ini disebabkan karena luka bakar derajat II biasanya telah sembuh setelah 10-14 hari (Moenadjat, 2001). Selain itu, efek percepatan penyembuhan luka dari madu lebih dominan yang disebabkan oleh sifat antibakteri dari madu. Sifat antibakteri madu ini disebabkan oleh adanya hidrogen peroksida (H_2O_2) yang merupakan hasil pemecahan glukosa oleh enzim glukosa oksidase. Hidrogen peroksida dalam madu mencegah invasi bakteri, membantu sterilisasi dan menghilangkan debris luka, serta menstimulasi makrofag, limfosit dan neutrofil yang mana mempercepat fase inflamasi pada luka. Hidrogen peroksida juga menstimulasi angiogenesis dan pertumbuhan fibroblas dan epitel yang terlibat dalam fase migrasi dan proliferasi (National Honey Board, 1997; Molan, 1995; Molan, 2001). Fase inflamasi, migrasi dan proliferasi tersebut terjadi pada awal fase penyembuhan luka. Maka disebabkan oleh faktor-faktor diatas pengolahan data hanya menggunakan sampel persentase penyembuhan luka dari hari ke-1 hingga hari ke-13.

Dari hasil pengolahan statistik dengan menggunakan uji ANOVA (Analisis Varian) 2 arah, yang dihitung persentase penyembuhan luka dari hari ke-1 hingga hari ke-13 dengan berbagai kelompok perlakuan menunjukkan hasil, yaitu jenis perlakuan dan waktu mempunyai pengaruh yang nyata terhadap luas luka menunjukkan perbedaan yang signifikan, dengan hasil jenis perlakuan 0,014 dan waktu 0,000. Hal itu berpengaruh karena angka yang didapat bermakna ($p < 0,05$). Tetapi, korelasi hubungan antara waktu dan jenis perlakuan tidak menunjukkan hasil yang signifikan atau bermakna yaitu 1,000 ($p > 0,05$) (Lampiran 3, Tabel 7 dan 8). Untuk jenis perlakuan dilanjutkan dengan uji lanjut jarak berganda Duncan, dimana hasil luas luka dari faktor jenis perlakuan menghasilkan 2 subset yaitu subset 1 kontrol negatif dan gel madu, subset 2 gel madu, membran madu, dan kontrol positif, dari Tabel ditunjukkan bahwasanya kelompok kontrol negatif memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok membran madu dan kontrol positif dan tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan gel karena berada dalam subset yang sama yaitu subset 1. Dari tabel juga ditunjukkan bahwa antara kelompok membran madu dan kontrol positif tidak memiliki perbedaan signifikan karena berada dalam 1 subset yaitu subset 2 (Lampiran 3, Tabel 7 dan 8).

Hasil uji luka sayatan juga memberikan hasil yang serupa dengan uji luka bakar. Kelompok hewan uji yang diobati dengan membran madu memberikan hasil uji tarik yang paling besar. Ini berarti bahwa membran madu dapat menghasilkan

kondisi luka yang baik untuk mempercepat penyembuhan luka (Santos et al., 2006; Gore and Akolekar, 2003; Agren et al., 1997). Madu yang terkandung di dalam membran bekerja sebagai antibakteri untuk mencegah terjadinya infeksi pada luka (Cockbill, 2002; National Honey Board, 1997). Hasil pengolahan secara statistik yang berbeda bermakna adalah pada hari ke-6.

BAB 6. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA

Setelah dilakukan uji preklinis gel dan membran madu, tahap selanjutnya adalah uji klinis. Membran madu selanjutnya diuji secara klinis efeknya terhadap mempercepat penyembuhan luka pada manusia. Pengujian ini rencananya dilaksanakan pada tahun ke dua dari rangkaian penelitian ini.

BAB 7. KESIMPULAN

Membran madu paling efektif untuk mempercepat penyembuhan luka bakar dan luka sayatan bila dibandingkan dengan dengan kelompok kontrol negatif. Hasil analisa statistik menggunakan ANOVA dua arah memperlihatkan bahwa perlakuan dan waktu memberikan hasil yang berbeda bermakna pada luka bakar ($p < 0,05$). Membran madu memberikan hasil yang berbeda bermakna dibandingkan dengan kelompok lainnya pada hari ke-6 ($p < 0,05$) untuk uji luka sayatan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agren, M. S., Mertz, P. M. and Franzen, L. 1997. A comparative study of three occlusive dressings in the treatment of full-thickness wounds in pigs. *J. Am. Acad. Dermatol.*, **36**(1), 53-58.
- Anonim, 2012, *Pengertian Madu*, [www.chapterII.pdf/objek aplication/pdf](http://www.chapterII.pdf/objek%20aplication/pdf), (Februari 2012).
- A.S.T.M. 2005. Standard Practice for Testing Biomaterials in Rabbits for Primary Skin Irritation *ASTM Designation: F 719 - 81 (Reapproved 2002)* (pp. 263 - 265). Philadelphia: American Society for Testing and Materials.
- Bagley, D. M., Gardner, J. R., Holland, G., Lewis, R. W., Regnier, J. F., Stringer, D. A. and Walker, A. P. 1996. Skin Irritation: reference chemical data bank. *Toxicol. in Vitro*, **10**, 1-6.
- Balakrishnan, B., Mohanty, M., Umashankar, P. R. and Jayakrishnan, A., 2005, Evaluation of an in situ forming hydrogel wound dressing based on oxidized alginate and gelatin. *Biomaterials*, **26**(32), 6335-6342.
- Bergman A, Yanai J, Weiss J, Bell D, David MP., 1983, Acceleration of wound healing by topical application of honey. An animal model. *American Journal of Surgery*; **145**:374-6.
- Blomfield R. Honey for decubitis ulcers.,1973, *JAMA*; **224**(6):905.
- Carter, S.S., Dispensing Pharmaceutical Student. 12th ed. 1975, London: Pittman Medical.
- Cao, N., X. Yang, and Y. Fu, Effects of various plasticizers on mechanical and water vapor barrier properties of gelatin films. *Food Hydrocolloid*, 2009. **23**(3): p. 729-735.
- Cockbill, S. M. E. (Ed.), 2007, *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* (Third edition ed., Vols. 2). New York: Informa Healthcare. 1023 - 1037.
- DEPKES RI, 1979, *Farmakope Indonesia III*, Depertemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Ecobichon, D. J. 1997. *The Basis of Toxicity Testing* (2 ed.). New York: CRC Press, pp. 62-64.
- Efem SEE., 1988, Clinical observations on the wound healing properties of honey. *British Journal of Surgery*; **75**:679-81.
- Febriyenti, Azmin, M. N. and Baie, S. B. B., 2008, *Mechanical Properties and Water Vapor Permeability of Membrans Produced by Aerosol Concentrates*. Paper presented at the 4th Life Sciences Postgraduate Conference USM 2008.
- Febriyenti, Najmiatul Fitria, Noratiqah Mohtar, Salman Umar, Deni Noviza, Shintia Rineldi, Yunirwanti and Saringat bin Bai, 2014, Honey gel and film for burn wound, *International Journal of Drug Delivery*, Vol. 6, No. 1, 1-6

- Fetisova, N. I. and Tsetlin, V. M., 1976, Main Group of Parameters for Evaluating MembranForming Properties in Aerosol Packages for the Treatment of an Operation Field and for the Sealing of Wounds. *Khim. Farm. Zh+*, 10(8), 86 - 91.
- Gore, M. A. and Akolekar, D. 2003. Evaluation of banana leaf dressing for partial thickness burn wounds. *Burns*, 29(5), 487-492.
- Khan, T. A., Peh, K. K. and Ch'ng, H. S., 2000, Mechanical, Bioadhesive Strength and Biological Evaluations of Chitosan Membrans for Wound Dressing. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 3(3), 303 - 311.
- Kumar, L. and R. Verma, *In vitro* evaluation of topical gel prepared using natural polymer. *International Journal of Drug Delivery*, 2010. 2: p. 58 - 63.
- Lachman, L.,H.A. Lieberman, J.L. Kaning, 1994, *Teori dan Praktek Farmasi Industri* (ed III), diterjemahkan oleh Siti Suyatmi, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Laila L., Febriyenti, Salizawati M. Salhimi and Saringat Baie, Wound healing effect of Haruan (*Channa striatus*) spray, *International Wound Journal*, Vol. 8, No. 5, 2011, 484 - 491
- Lansdown, A.B.G., 1993, Animal Husbandry In: Anderson D., Conning, D.M. (editors), *Experimental Toxicology*, 2nd ed., London, Royal Society of Chemistry, 82-106.
- Macleod, G. S., Fell, J. T. and Collett, J. H., 1997, Studies on the physical properties of mixed pectin/ethylcellulose membrans intended for colonic drug delivery. *Int. J. Pharm.*, 157(1), 53-60.
- Molan, PC., 1999, Why honey is effective as amedicine. 1. Its use inmodern medicine. *Bee World* ; 80(2):80-92.
- Ndayisaba G, Bazira L, Habonimana E, Muteganya D., 1993, Clinical and bacteriological results in wounds treated with honey. *Journal of Orthopaedic Surgery*; 7(2):202-4.
- Olfert, ED, Cross, BM, Mc William AA, 1993, Guide to the care and use of experimental animal. In: Olfert ED, Cross BM, Mc William AA, editors CCAC, 2nd edition, Ottawa: Canadian Council on Animal Care.
- Oryan A, Zaker SR., 1998, Effects of topical application of honey on cutaneous wound healing in rabbits. *Journal of Veterinary Medicine Series A*; 45(3):181-3.
- Postmes TJ, Bosch MMC, Dutrieux R, van Baare J, Hoekstra MJ., 1997, Speeding up healing of burns with honey.An experimental study with histological assessment of wound biopsies. In: MizrahiA, LenskyY editor(s). *Bee Products: Properties, Applications and Apitherapy*. New York: Plenum Press.
- Purbaya, J.R, 2007, *Mengenal Madu Alami*, Pionir Jaya, Bandung.
- Rostita, 2007, *Berkat Madu Sehat Cantik & Penuh Vitalitas*, Mitan Pustaka, Bandung.

Santos, K. S. C. R., Coelho, J. F. J., Ferreira, P., Pinto, I., Lorenzetti, S. G., Ferreira, E. I., Higa, O. Z. and Gil, M. H., 2006, Synthesis and characterization of membrans obtained by graft copolymerization of 2-hydroxyethyl methacrylate and acrylic acid onto chitosan. *Int. J. Pharm.*, **310**(1-2), 37-45.

Sezer, A. D., Hatipoglu, F., Cevher, E., Ogurtan, Z., Bas, A. L. and Akbuga, J., 2007, Chitosan Membran Containing Fucoidan as a Wound Dressing for Dermal Burn Healing: Preparation and In Vitro/In Vivo Evaluation. *AAPS Pharm. Sci.Tech.*, **8**(2), E1 - E8.

Soula, G., Grosselin, J.-M., Jorda, R. and Castan, C., 1999, Aerosol Composition for Forming a Hydrated Membran and Applications Thereof. Flamel Technologies, Venissieux Cedex, France United States Patent 5914098.

Subrahmanyam M., 1991, Topical application of honey in treatment of burns. *British Journal of Surgery*; **78**(4):497-8.

Subrahmanyam M., 1998, A prospective randomised clinical and histological study of superficial burn wound healing with honey and silver sulfadiazine. *Burns*; **24**(2):157-61.

Swarbrick, J. and J.C. Boylan, *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. 1992, Marcel Dekker, Inc.: New York.

Turner, T. D. (Ed.), 1991, *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* (Vols. 4). New York, Basel, Hong Kong: Marcel Dekker, Inc. 283 - 301.

Voigt, R, 1994, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi* (Edisi ke-5), Diterjemahkan oleh Soendani Noerono, Gadjah Mada Press, Yogyakarta.

Watson, N. F. S. and Hodgkin, W., 2005, Wound dressings. *Surgery (Oxford)*, **23**(2), 52-55.

Weiss, J., Herman, O., Wertheym, E. and Shafir, R., 1993, Synthetic Skin Substitute for Superficial Paediatric Burns. from http://www.medbc.com/annals/review/vol_6/num_2/text/vol6n2p105.htm

Lampiran 1. Surat Keterangan Lolos Kaji Etik



KOMITE ETIKA PENELITIAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS ANDALAS
Jl. Perintis Kemerdekaan Padang 25127
Telepon: 0751 31746 Fax : 0751 32838 No. Reg : 036/KNP/2008
e-mail: fk2unand@pdg.vision.net.id

No: 035/KEP/FK/2015

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK ETHICAL CLEARANCE

Tim Komite Etika Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang, dalam upaya melindungi hak azazi dan kesejahteraan subjek penelitian kedokteran/kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol penelitian dengan judul:
The Committee of the Research Ethics of the Faculty of Medicine, Andalas University, with regards of the protection of human rights and welfare in medical/health research, has carefully reviewed the research protocol entitled:

"Uji Efektivitas Gel dan Membran Madu dalam Percepatan Penyembuhan Luka Bakar dan Luka Sayatan pada Tikus"

Nama Peneliti Utama : Muhammad Hanif
Name of the Investigator

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Andalas
Name of Institution

dan telah menyetujui protokol penelitian tersebut diatas.
and recommended the above research protocol.

Padang, 23 Maret 2015

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas
Dean of Faculty of Medicine Andalas University


Ketua
Chairperson

Dr. dr.H. Masrul, MSc, Sp.GK
NIP. 1956 1226 1987 101 001



Prof. Dr. dr. Eryati Darwin, PA(K)
NIP. 1953 1109 1982 112 001


Lampiran 2. Hasil Pemeriksaan Mutu Madu



**Kementerian
Perindustrian**
REPUBLIK INDONESIA

KEMENTERIAN PERINDUSTRIAN RI
BADAN PENGKAJIAN KEBIJAKAN IKLIM DAN MUTU INDUSTRI
BALAI RISET DAN STANDARDISASI INDUSTRI PADANG
Jalan Raya LK No. 23 Ulu Gadut Padang 25164 Telp. (0751) 72201 Fax. (0751) 71320
E-mail: baristand_pdg@yahoo.com Website: http://baristandpadang.kemendperin.go.id

F.6.12.02.E1R0



VKAN
Komite Akreditasi Nasional
LP - 607 - IDN

No. : 0269/BPKIMI/BSIP/LAB/II/2015

No. Pengujian : 0301/U/II/2015

No. of testing :

Surat Sdr/FPA No : 0174/BPCU/II/2015

No. of your reference :

Kepada Yth, Sdr

To : Muhammad Hanif

Jl. Tunggang

Pauh

Padang

Sumatera Barat

Yang bertanda tangan dibawah ini, menerangkan bahwa hasil pengujian
The undersigned certifies that the test result

Dari contoh : Madu

of the sample :

Cap 07 diambil segel oleh : Pelanggan

marked taken sealed by :

Yang kami terima dari saudara tgl.: 23 Februari 2015

received on :

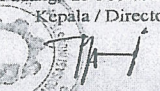
adalah sebagai berikut

as follows

No.	Parameter Uji	Satuan	SNI 3545 : 2013	Hasil Analisa
1	Kadar Air	% b/b	Maks. 22	22,40
2	Gula Pereduksi (Dihitung sebagai Glukosa)	% b/b	Min. 65	87,58
3	Sukrosa	% b/b	Maks. 5	1,10

Padang, 25 Februari 2015

Kepala / Director



PRIMA YUDHA HAYATI

Hasil pengujian ini tidak untuk digandakan dan hanya berlaku untuk contoh-contoh tersebut diatas
The test result is not to be duplicated and only applies to the samples mentioned above

Lampiran 2. Lanjutan



KEMENTERIAN PERINDUSTRIAN RI
BADAN PENGKAJIAN KEBIJAKAN IKLIM DAN MUTU INDUSTRI
BALAI RISET DAN STANDARDISASI INDUSTRI PADANG
Jalan Raya LK No. 23 Ulu Gadut Padang 25164 Telp. (0751) 72201 Fax. (0751) 71320
E-mail: baristand_pdg@yahoo.com Website: http://baristandpadang.kemendperin.go.id



No.	1082/BPKIMI/BRISIP/LAB/VIII/2015	Kepada Yth, Sdr
No. Pengujian No. of testing	2005/U/VIII/2015	To : Muhammad Hanif
Surat Sdr/FPA No No. of your reference	0978/BPCU/VIII/2015	Jl. Tunggang Pauh Padang Sumatera Barat

Yang bertanda tangan dibawah ini, menerangkan bahwa hasil pengujian
The undersigned certifies that the test result

Dari contoh
of the sample : Madu

Cap
marked diambil segel oleh : Pelanggan
taken sealed by

Yang kami terima dari saudara tgl.: 05 Agustus 2015
received on



adalah sebagai berikut
as follows

No.	Parameter Uji	Satuan	SNI 3545 : 2013	Hasil Analisa
1	Keasaman	ml NaOH/kg	Maks. 50	47,87
2	Padatan Tak Larut Dalam Air	% b/b	Maks. 0,5	0,24
3	Abu	% b/b	Maks. 0,5	0,09
4	Cemaran Logam :			
4.1.	Timbal (Pb)	mg/kg	Maks. 2,0	< 0,0027 *
5	Cemaran Mikroba :			
5.1.	Angka Lempeng Total (ALT)	Koloni/g	< 5 x 10 ³	2,9 x 10 ³
5.2.	Angka Paling Mungkin (APM) Koliform	APM/g	< 3	< 3
5.3.	Kapang dan Khamir	Koloni/g	< 1 x 10 ¹	1,32 x 10 ³
6	pH	-	-	4,52

Ket. : * = LoD (Limit of Detection)

Padang, 21 Agustus 2015
Kepala / Director
Manager Teknis
HENDRI MUCHTAR

Hasil pengujian ini tidak untuk digandakan dan hanya berlaku untuk contoh-contoh tersebut diatas
The test result is not to be duplicated and only applies to the samples mentioned above

 <p>Kementerian Perindustrian REPUBLIC INDONESIA</p>	<p>BADAN PENGKAJIAN KEBIJAKAN IKLIM DAN MUTU INDUSTRI BALAI BESAR INDUSTRI AGRO <i>Center for Agro-Based Industry</i> AGRO BASED INDUSTRY CALIBRATION AND ANALYTICAL LABORATORIES (ABICAL) Jalan Ir. H. Juanda No. 11, Bogor 16122 Telp. (0251) 8324068, 8323339 Fax. (0251) 8323339</p>	 <p>KAN Kemitraan Nasional Laboratorium Pengujian LP-057-IDW</p>
--	---	---

Kepada :
 To : Yuli Purnamasari
 IPB - Dramaga
 Bogor 16680

LAPORAN HASIL UJI
TEST REPORT

<p>Balasan surat / Permintaan tanggal : - Reply to your letter / request dated</p>	<p>Nomor / Number : 2149/UHU/Bd/ABICAL.1/III / 2015 Nomor Analisis : 2089 Analysis Number Nomor Seri : 2149 Serial Number Halaman / Page : 1 dari / of 2 Tanggal penerbitan : 6 Maret 2015 date of issue</p>
---	---

Yang bertanda tangan dibawah ini menerangkan, bahwa hasil pengujian
 The undersigned attests that the testing of

Contoh	:	Madu
Sample (s)	:	
Untuk analisis	:	Kimia
for analysis	:	
Keterangan contoh	:	Dikemas dalam botol plastik tidak berlabel
Description of sample	:	
Diambil dari	:	-
Taken from	:	
Oleh	:	-
by	:	
Tanggal penerimaan contoh	:	24 Februari 2015
Date of sample	:	
Tanggal pelaksanaan analisis	:	25 Februari 2015
Date of analysis	:	
Pengambilan contoh	:	-
Sampling	:	
adalah sebagai berikut	:	-
The result is as follows	:	

HASIL PENGUJIAN INI TIDAK UNTUK DIGANDAKAN
 DAN HANYA BERLAKU UNTUK CONTOH-CONTOH
 TERSEBUT DIATAS. /
 PENGAMBILAN CONTOH BERTANGGUNG JAWAB
 ATAS KEBENARAN TANDING BARANG.

H A S I L
TEST RESULT

Nomor Seri : 2149
Serial Number

Nomor / Number : 2149/LHU/Bd/ABICAL.1 / III / 2015

Nomor Analisis : 2089
Analysis Number

Halaman / Page : 2 Dari / of 2

Parameter	Satuan	Hasil	Metode Uji/Teknik
Aktifitas enzim diastase	DN	1,72	SNI. 01-3545-2004, butir 6.2
Hidroksimetilfurfural (HMF)	mg/kg	0	SNI. 01-3545-2004, butir 6.3

ASLI
ORIGINAL

Laboratorium Analisis dan Kalibrasi
Balai Besar Industri Agro

Analytical and Calibration Laboratories
Center for Agro-Based Industry

Deputi Manajer Teknis
Pengujian I

(Reki Sari Puspitaningrum)

ta/hf

HASIL PENGUJIAN INI TIDAK UNTUK DIGANDAKAN
DAN HANYA BERLAKU UNTUK CONTOH-CONTOH
TERSEBUT DIATAS.
PENGAMBILAN CONTOH BERTANGGUNG JAWAB
ATAS KEBENARAN TANDING BARANG.

Lampiran 3. Analisa data

Tabel 7. Hasil perhitungan statistik *analysis of variant* (ANOVA) 2 arah gel dan membran madu terhadap persentase penyembuhan luka tikus (SPSS 16.0)

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: persentase penyembuhan

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	36914.151 ^a	51	723.807	25.190	.000
Intercept	76361.368	1	76361.368	2.658E3	.000
Kelompok	312.489	3	104.163	3.625	.014
Waktu	36241.286	12	3020.107	105.105	.000
kelompok * waktu	360.376	36	10.010	.348	1.000
Error	7470.907	260	28.734		
Total	120746.425	312			
Corrected Total	44385.057	311			

a. R Squared = .832 (Adjusted R Squared = .799)

Tabel 8. Hasil uji post-hoc Duncan terhadap persentase penyembuhan luka dari faktor jenis perlakuan/kelompok (SPSS 16.0)

persentase penyembuhan

Duncan

kelompok perlakuan	N	Subset	
		1	2
kontrol negatif	78	14.1014	
Gel	78	15.6151	15.6151
Membran	78		15.9899
kontrol positif	78		16.8713
Sig.		.079	.170

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 28.734.